

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1962

THÈSE

N°

171

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Thierry, Xavier, Marie, Ignace PINEAU - VALENCIENNE

Externe des Hôpitaux de Paris

Né le 12 Juin 1935 à CHANTONNAY (Vendée)

Présentée et soutenue publiquement le

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA VITAMINE B 12 RADIO-ACTIVE
ET DE SES APPLICATIONS EN HÉMATOLOGIE

Président : Monsieur Georges MARCHAL (Professeur)

DACTYLO - SORBONNE

8. Rue Casimir - Delavigne

PARIS - VI°

1962



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

-:-

Année 1962

N°

T H E S E

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE
(Diplôme d'Etat)

par

Thierry, Xavier, Marie, Ignace PINEAU-VALENCIENNE
Externe des Hôpitaux de Paris
Né le 12 Juin 1935 à CHANTONNAY (Vendée)

-:-

Présentée et soutenue publiquement
le

-:-

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA VITAMINE B 12
RADIO-ACTIVE ET DE SES APPLICATIONS EN
HEMATOLOGIE

-:-

Président : Monsieur Georges MARCHAL (Professeur)

-:-

DACTYLO-SORBONNE
8, rue Casimir Delavigne
PARIS
1962



PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. ALAJOUANINE (T), AUBIN (A), BERNARD (H), BULLARD (H), CADENAT (F), CHABROL (E), CHAMPY (C), EBRE (R), FEY (B), GASTINEL (P), GUILLAIN (G), ALPHEN (E), HAZARD (R), HEUYER (G), LANTUEJOUL (P), AROCHE (G), LEVY-SOLAL (E), LIAN (C), LOEPER (M), ARION (G), MATHIEU (P), MOCQUOT (P), MONDOR (H), ONOD (R), MOREAU (R), OLIVIER (E), PETIT-DUTAILLIS (D), PASTEUR VALLERY-RADOT (L), RICHET (C), ENEQUE (J), STROHL (A), TANON (L),

DOYEN : Léon BINET

Membre de l'Institut

ASSEESSEUR Jean VERNE

I - PROFESSEURS

	MM.
anatomie	DELMAS (A)
anatomie pathologique	DELARUE (J)
anesthésiologie	BAUMANN (J)
astériologie	FASQUELLE (R)
iochimie médicale	JAYLE (M.F.)
biologie appliquée à l'Education	
physique et aux Sports	CHAILLEY-BERT (P)
biologie médicale	FAUVERT (R)
oncérologie médicale et sociale	BERNARD (J)
linique carcinologique (Necker)	REDON (H)
linique cardiologique (Broussais)	MOUQUIN (M)
(Beaujon	SICARD (A)
(Cochin	QUENU (J)
liniques chirurg-	
icales	PATEL
(Saint-Antoine	GOSSET (J)
(Salpêtrière	MOULONGUET (P)
	CORDIER (G)
	LORTAT-JACOB
	LAURENCE
linique de chirurgie infantile et	
orthopédique (Enfants-Malades)	FEVRE (M)
linique chirurgicale orthopédique	
et réparatrice (Cochin)	MERLE d'AUBIGNE (R)
linique de chirurgie cardiovascu-	
laire (Broussais)	de GAUDART d'ALLAINES (F)
linique de chirurgie pleuro-	
pulmonaire (Laënnec)	MATHEY (J)
linique endocrinologique (Pitié)	DECOURT (J)
linique génétique médicale (E. Mal)	LAMY (M)
linique Gynécologique (Broca)	FUNCK-BRENTANO (P)

Gérontologie	BOURLIERE
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)	DEGOS (R)
Clinique des maladies des enfants	CATHALA (J)
Clinique des maladies infectieuses	MOLLARET (P)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)	DELAY (J)
Clinique des maladies métaboliques	HAMBURGER (J)
Clinique des maladies du sang	MARCHAL (G)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	GARCIN (R)
(Cochin)	BROUET
(Cochin)	JUSTIN-BESANCON (L)
(Hôtel-Dieu)	BARIETY (M)
Cliniques médicales (Broussais)	SOULIE (P)
(Pitié)	DREYFUS (G)
(St-Antoine)	KOURILSKY (R)
(Boucicaut)	LENEGRE
Clinique médicale d'hydrologie thérap. et climatologie (Bichat)	DEBRAY (C)
Clinique médicale propédeutique	de GENNES (L)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nu- trition (Hôtel-Dieu)	DEROT (M)
Clinique de neuro-chirurgie	DAVID
(Baudelocque)	LACOMME (M)
Cliniques (Port-Royal)	VARANGOT
obstétricales (Foch)	MERGER
Clinique obstétricale et gynécol.	LEPAGE
Clinique ophtalmologique	RENARD (G)
Clinique oto-rhino-laryngologique	AUBRY (M)
Clinique de pathologie respiratoire	TURIAF
Clinique de pédiatrie sociale	MARIE (J)
Clinique de pneumo-phtisiologie	BERNARD (E)
Clinique psychiatrique infantile	MICHAUX (L)
Clinique de puériculture	LELONG (M)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	COSTE (F)
Clinique stomatologique (Pitié)	DECHAUME (M)
Clinique thérapeutique médicale	LEMAIRE (A)
Clinique urologique (Cochin)	COUVELAIRE
Electrophysiologie médicale	DJOURNO (A)
Embryologie	GIROUD (A)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	de SEZE*
Histologie	VERNE (J)

	MM.
Hygiène des collectivités (ch. à t.pers.)	DEPARIS
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	TURPIN (R)
Hygiène et médecine préventive	JOANNON (P)
Médecine du Travail	DESCOILLE (H)
Médecine légale	PIEDELIEVRE (R)
Parasitologie	GALLIARD (H)
Pathologie exotique	LAVIER (G)
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.P)
Pathologie médicale	MILLIEZ
Pathologie et thép.générales	BOUDIN
Pharmacologie et matière médicale	CHEYMOL (J)
Physiologie	BINET (L)
Physiologie (ch. à t. pers.)	PARROT
Physique médicale	DOGNON (A)
Radiologie médicale	DESCREZ (H)
Technique chirurgicale	LEGER
Thérapeutique	CONTE

II - PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS
AGREGES ET MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

	MM.
Anatomie	(CABROL (C) COUINAUD (C) OLIVIER (G) GAUTHIER-VILLARS (Melle P) pr.s.ch. BUSSE (F) GOUYGOU (Ch) ORCEL (L) PAILLAS (J) VOURC'H (G) NEVOT (A) pr.s.ch. BARBIER (P) CHRISTOL (D) TOURNIER (P) DESGREZ (P) pr.s.ch. POLONOVSKI (J) m.conf. SCHAPIRA (G) pr.t.p. DENOIX (P) MATHE (G) DUPERRAT (B) LEDoux-LEBARD (G) TUCHMAN-DUPLESSIS (H)
Anatomie pathologique	
Anesthésiologie	
Bactériologie	
Biochimie médicale	
Carcinologie	
Dermato-syphiligraphie	
Electro-radiologie	
Embryologie	

	MM.
Hématologie	(BILSKI-PASQUIER (G) (DAUSSET (J) (COUJARD (R) pr.s.ch.
Histologie	(MAROIS (M) (RACADOT (J) (CORNET (A)
Hydrologie	(BOYER (J) pr.s.ch.
Hygiène	(CORRE-HURST (Mme L) (BASTIN (R) (DUPONT (V)
Maladies infectieuses	(DEROBERT (L) pr.s.ch. (HADENGUE (A) (FOURNIER (E) (GUENIOT (M)
Médecine légale	(ALBAHARY (G) (LHERMITTE (F) (GRANJON (A) (HERVET (E) (LE LORIER (G)
Obstétrique	(MORIN (P) (MUSSET (R) (ROBEY (M) (THOYER-ROZAT (J) (BREGEAT (P) (SARAUX (H) (LUDET (R) (RAMADIER (J) (DEBAIN (J) (BRUMPT (L.C) pr.s.ch. (CHABAUD (A) (BARCAT (J) (BINET (J.P.) (CAUCHOIX (J) (CHATELIN (C.L) (DUBOST (Ch) (DUBOST (Cl) (FAUREL (J) (FLABEAU (F) (GERMAIN (A) (LOYGUE (J) (MERCADIER (PERROTIN (J) (ROBERT (H) (THOMERET (G) (SCHNEIDER (J)
Ophtalmologie	
Orthopédie	
Oto-rhino-laryngologie	
Parasitologie	
Pathologie chirurgicale	
Pathologie exotique	

MM.

Pathologie expérimentale	(CROSNIER (J)
	(HARTMANN (L)
	(LOEPER (J)
	(MAURICE (J)
Pathologie expérimentale	(PLAS (F)
	(RICHT (G)
	(AUSSANNAIRE (M)
	(BOUR (H)
	(BOUVIER (J)
	(BOUVRAIN (Y)
	(BRICAIRE (H)
	(BRISSAUD (H)
	(BROCARD (H)
	(BUGE (A)
	(CASTAIGNE (P) m.conf.
	(CATINAT (J)
Pathologie médicale	(CONTAMIN (F)
	(COURY (C)
	(FREZAL (J)
	(HOUSSET (E)
	(LAROCHE (Cl)
	(LESOBRE (R)
	(MACREZ (C)
	(NICK (J)
	(PEQUIGNOT (H)m.conf.
	(ROYER (P)
	(WOLFROMM (R)
	(JOSEPH (R)
	(MANDE (R)
Pédiatrie-Puériculture	(MOZZICONACCI (P)
	(POLONOVSKI (C)
	(ROSSIER (A)
	(LEVY (Melle J)pr.s.ch.
Pharmacologie	(BOISSIER (J)
	(LECHAT (P)
Physiologie	(DEJOURS (P)
Physique médicale	(GOUGEROT (L)m.conf.
Pneumo-phthisiologie	(KREIS (B)
Psychiatrie	(FICHOT (P)
Psychiatrie infantile	(DUCHE (D)
Rhumatologie	(DELBARRE (F)
	(CERNEA (F)
Stomatologie	(CHAPUT (Mme A)m.c.agr.
	(GRELLET (M)
	(CHASSAGNE (P)
Thérapeutique	(LAMOTTE (M)
Urologie	(QUENU (L)

III - PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE A TITRE PERMANENT

	MM.		MM.
	(ABOULKER (P)		(GRASSET (J)
	(AMELINE (A)	Clinique	(MAYER (M)
	(HUGUIER (J)	obstétricale	(RAVINA (J)
Clinique	(OLIVIER (C)	Clinique	(DESVIGNES (P)
chirurg.	(PADOVANI (P)	ophthalmol.	(OFFRET (G)
	(POILLEUX (F)	Clinique	
	(ROUX (M)	oto-rhino-	(MADURO (R)
	(VERNE (J.M.)	laryng.	
	(HAGUENEAU (J)	Clinique	
	pr.s.ch.	pédiatrique	(LAPLANE (R)
Clinique	(DOMART (A)	et puéricul-	
médicale	(PERRAULT (M)	ture	
	(RAMBERT (P)	Clinique	(BARUK (H)
	(THIEFFRY (S)	psychiatrique	
		Clinique	(KUSS (R)
		urologique	

IV - PROFESSEURS DETACHES DANS LES UNIVERSITES ETRANGERES

Bactériologie	MM. HAUDUROY (P) pr.s.ch.
Biochimie médicale	ETTORI (J) pr.à t.pers.
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J) pr.s.ch.
Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J)
Secrétaires	Mme BEURLAND (H)
	Melle CHAINTREUIL (G)
	Melle HURE (A)
Conservateur, chargé de la direction	
de la bibliothèque	M. le Dr. HAHN (A)
Conservateurs	Melles DUMAITRE (P), GOICHON (A.M)
Bibliothécaires	Mme CONTET (J), Melles LAURENT (H), LE NOIR (G), QUIEVREUX (E)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A la mémoire de mon Grand-Père,

Monsieur le Docteur Maurice PINEAU,

Membre de la Société de Pathologie comparée de Paris ,

A la mémoire de ma Mère,

A mon Père,

Monsieur le Docteur René PINEAU-VALENCIENNE,

Qui nous a donné le goût
des études médicales,

Qui sera toujours pour nous
un exemple .

A tous les Miens.

A notre Président de Thèse,

Monsieur le Professeur Georges MARCHAL,

Professeur de Clinique des Maladies
du Sang,
Médecin des Hôpitaux,
Chevalier de la Légion d'Honneur,

Qui nous a fait le grand
honneur d'accepter la
présidence de cette thèse,

Hommage respectueux et
reconnaissant.

A mes Maîtres d'Externat,

Monsieur le Professeur BAUMANN,
Monsieur le Professeur SENEQUE,
Monsieur le Docteur ANTONELLI,
Monsieur le Professeur de SEZE,
Monsieur le Docteur MAY,
Monsieur le Professeur DESGREZ,
Monsieur le Docteur PORCHER,

En témoignage de reconnaissance pour ce que nous
leur devons.

A Monsieur le Professeur AUVIGNE,

Doyen Honoraire de la Faculté de Médecine
de Nantes,

Pour la bienveillance avec
laquelle il nous a
toujours conseillé.

A mes Maîtres de la Faculté de Médecine
de Nantes.

A mes Amis et Camarades d'Externat.

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA VITAMINE
B 12 RADIO-ACTIVE ET DE SES APPLICATIONS
EN HEMATOLOGIE

-:-

INTRODUCTION

-:-

La pathogénie de l'anémie biermérienne a posé une série de problèmes qui n'ont pas tous encore reçu leur solution.

Pourtant, des acquisitions d'importance, voire même parfois décisives, ont été faites, jalonnant les recherches de ces trente dernières années :

- Tout d'abord, la notion de l'existence de deux facteurs anti-anémiques, dont l'absence, ou l'insuffisance, sont décisives :
 - le facteur intrinsèque de Castle, présent au niveau de la muqueuse gastrique fundique, mais probablement aussi à d'autres étages du tractus intestinal ;
 - le facteur extrinsèque dont l'utilisation par l'organisme n'est possible qu'en présence d'une activité normale de facteur intrinsèque.
- Ensuite, l'identification du facteur extrinsèque, avec la vitamine B 12, déjà connue dans ses effets et ses carences.

Celle-ci est à ce point essentielle dans l'hémopoïèse que son dosage, son administration thérapeutique d'épreuve, ont pu servir de test de diagnostic de la maladie de Biermer. Mais il n'est pas aisé de suivre le sort de la vitamine B 12 administrée, et c'est pourquoi la technique du marquage par isotope

radio-actif a trouvé ici une de ses plus remarquables utilisations. En "marquant" la vitamine B 12 par le cobalt radio-actif, on a pu mettre au point des tests, dérivés de celui de Schilling, qui permettent, avec une technique relativement simple, de mesurer l'utilisation de la vitamine B 12 administrée : initialement, le test de Schilling était basé sur la mesure de la radio-activité de l'excrétion urinaire de la vitamine B 12 radio-active. Par la suite on mesura également la radio-activité de l'excrétion fécale, enfin, avec une technique analogue à celle qui permet l'exploration de la fonction thyroïdienne par l'iode radio-actif ^{131}I , on a également mesuré la radio-activité superficielle, cutanée, après administration de vitamine B 12 marquée. En particulier, les déterminations au niveau de l'aire hépatique, le foie retenant la vitamine B 12, ont été des plus fructueuses sur le plan diagnostique.

C'est donc surtout dans le domaine de l'anémie de Biermer que l'utilisation de la vitamine B 12 radio-active est intéressante. Mais des anémies d'autres étiologies, l'achlorhydrie, l'étude de la muqueuse gastrique, ont également fourni des indications au test de Schilling et aux techniques qui en dérivent. La liste sans doute, de ces indications, ne fera que s'allonger à l'avenir. Ainsi donc, dans le domaine clinique, la vitamine B 12 radio-active semble en plein essor.

Elle paraît également en évolution en ce qui concerne sa préparation ; classiquement, si l'on peut employer ce terme pour une technique dont les débuts remontent à peine à une dizaine d'années, c'est par le cobalt radio-actif ^{60}Co que la vitamine B 12 a été d'abord marquée. Mais, nous le verrons plus loin, la longue période de vie de cet isotope complique

son utilisation, et des préparations ont été faites à partir de 58 Co et de 56 Co, plus avantageuses, mais jusqu'ici d'accès encore difficile.

Quelques investigations bibliographiques nous ont montré que c'est à partir de 1951 que les recherches expérimentales avec la vitamine B 12 radio-active ont pris de l'importance, et BARBEE & JOHNSON en ont étudié le métabolisme chez le Rat, alors que CHALET et ROSENBLUM, l'année précédente, avaient effectué la biosynthèse de la vitamine B 12 contenant 60 Co. Toujours sur le plan expérimental, CHOW et ROSENBLUM ont administré au Rat, par voie buccale, une vitamine B 12 marquée de 60 Co; puis ROSENBLUM en a tenté l'administration parentérale. LANG et GLEYSTEN, en 1953, étudient, toujours chez le Rat, la disparition de la radio-activité tissulaire après injection sous-cutanée de vitamine B 12 marquée. Mais les premiers essais en clinique humaine apparaissent, avec HEINIE qui, dès 1952, avait étudié l'excrétion et l'absorption de la vitamine B 12 marquée par 60 Co dans l'anémie Biermérienne; l'année 1953 devait apporter les résultats de maintes expériences cliniques. MEYER et BECERRA-CARCIA étudient le sort de B 12 radio-active administrée par voie buccale chez des sujets normaux, chez des Biermériens, et dans divers états pathologiques. Mais cette année 1953 est surtout dominée par les travaux de R.F. SCHILLING, qui met au point le test qui porte son nom, et qui permet, par la vitamine B 12 marquée, d'explorer l'activité du facteur intrinsèque de CASTLE. Il étudie l'absorption et l'élimination de l'isotope marqué, et leur modification par l'adjonction de suc gastrique.

Toujours en 1953 , les recherches cliniques s'enrichissent des travaux de SUAREZ consacrés au sort de la vitamine B 12 marquée par 60 Co administrée par voie buccale dans la sprue tropicale, la cirrhose du foie , les états s'accompagnant de diarrhée grave. SWENDSEID, de son côté, explore l'excrétion de la vitamine B 12 marquée par 60 Co chez les gastrectomisés totaux.

L'année 1954 apporte de très nombreux et importants travaux : HALSTED précise le siège de l'absorption de B 12 radio-active après gastrectomie totale, celui de l'origine du facteur intrinsèque de CASTLE, et l'apparition d'une anémie macrocytaire. ROSENBLUM utilise la vitamine B 12 marquée pour apprécier l'activité du facteur intrinsèque, REISNER applique le test de SCHILLING et mesure l'excrétion urinaire de 60 Co-B 12 chez les sujets normaux, les Biermériens, et les malades atteints de Sprue; CALLENDER étudie une fois encore l'activité du facteur de Castle par la vitamine B 12 radio-active; BRADLEY propose une vitamine B 12 marquée par 58 Co, de période de vie beaucoup plus brève, donc de manière plus sûr. SCHILLING poursuit ses recherches avec son test appliqué à l'étude du facteur intrinsèque, et, à partir de 1954, GLASS entreprend des travaux extrêmement détaillés sur la fixation de B 12-60 Co, en particulier par le foie des sujets normaux et Biermériens, en appliquant les mesures scintillométriques de la surface cutanée. GLASS varie les voies d'introduction de la vitamine B 12 radio-active, les sujets utilisés, les associations isotope et facteur intrinsèque, et enrichit ainsi nos connaissances sur la biochimie et la physiologie du facteur intrinsèque dans ses rapports avec la vitamine B 12.

GLASS enfin peut établir par ces tests de radio-activité provoquée le diagnostic de la maladie de Biermer, de la Sprue en période de rémission; BADENOCH, en 1955, étudie la muqueuse gastrique biermérienne par la biopsie et le test de la vitamine B 12 radio-active; BAKER établit les rapports entre le facteur intrinsèque et l'absorption de vitamine B 12, MAC LEAN différencie achylie et achlorhydrie gastrique par le test de SCHILLING appliqué, par son auteur, dans la ~~maladie~~ de Biermer, l'achlorhydrie, chez les gastrectomisés totaux. MAC INTYRE base les données pathogéniques et thérapeutiques des anémies macrocytaires d'après l'absorption de la vitamine B 12 marquée. En France aussi on étudie, sur le plan expérimental d'abord, la B 12-60 Co : travaux de Mlle WEIS, en 1956, de R. WOLF, en 1958. MASLOW, en 1957, applique le test de SCHILLING à divers états pathologiques; MAC SMYTHE l'utilise dans le diagnostic de l'anémie de Biermer, KING dans celui des états de mauvaise absorption digestive; BERLYNF, PITNEY, JOHNSON, pratiquent la détermination de la radio-activité superficielle au niveau du foie dans la maladie de Biermer, ABELS l'utilise dans l'anémie bier- également, BONARD dans les anémies hyperchromes; HOLMES et BELL, tout récemment enfin, ont publié leur résultats cliniques avec le test d'absorption de la vitamine B 12 marquée par 60 Co.

On voit que la question de la vitamine B 12 radio-active en général, son utilisation en hématologie en particulier, est à l'ordre du jour. Sur le conseil de Monsieur le Professeur G. MARCHAL, à qui nous exprimons ici toute notre respectueuse gratitude pour l'intérêt qu'il a bien voulu prendre à notre travail, nous avons donc essayé de faire le point des connaissances actuelles

réunies sur la vitamine B 12 rendue radio-active par le Cobalt marqué, 56, 58 ou 60 Co.

- Nous verrons d'abord sous l'angle physique ce que sont ces préparations de vitamine B 12 marquées;
- puis nous décrirons les techniques d'administration de l'isotope et de détermination de la radio-activité urinaire, fécale, ou cutanée, superficielle, en particulier au niveau de l'aire hépatique;
- nous terminerons par une étude des applications cliniques de l'emploi de B 12-60 Co en hématologie.

- II -

ETUDE PHYSIQUE

-:-

Les travaux princeps de HEINLE avaient réussi à préparer une vitamine B 12 radio-activée par contact avec 60 Co. Mais ce dernier corps offre en biologie des inconvénients notables : sa période est en effet de l'ordre de cinq années, et sa demi-vie biologique est probablement longue, encore que non établie. On ne peut donc utiliser pour chaque individu que de très petites doses de vitamine B 12 marquée de 60 Co. Le Medical Research Control of Radio-isotopes PANEL a fixé à un microcurie de 60 Co la limite supérieure des doses à administrer en clinique humaine.

Aussi, pour augmenter la marge de sécurité, a-t-on rapidement cherché à utiliser non plus 60 Co, mais 58 Co ou 56 Co. Comme 60 Co, 58 Co émet un rayonnement gamma dur, mais avec cette différence que sa demi-vie est relativement courte, de l'ordre de 72 jours. On pourra donc utiliser sans danger de plus grandes quantités de vitamine B 12 marquée, et renouveler en cas de besoin son administration. BRADLEY, en 1954, s'est soucié d'obtenir une vitamine B 12 marquée par 58 Co, mais a souligné les difficultés d'obtenir cet isotope. BRADLEY a procédé comme suit :

il a irradié le nickel, libéré de tout cobalt naturel, dans la pile de Harwell. Les réactions produites ont été :

58 Ni (n.p) 58 Co, et

60 Ni (n.p) et 60 Co

Le Cobalt extrait est ajouté à un milieu de culture et converti en vitamine B 12 par la méthode décrite par L. SMITH (Biochem. Jour. LII page 387 1952). Le produit obtenu est purifié, par la méthode chromatographique sur papier, filtré, et cristallisé. La substance obtenue a une activité spécifique de 0,57 microcuries par microgramme de vitamine B 12. De cette radioactivité, 90 pour 100 sont représentés par 58 Co et 10 pour 100 par 60 Co, ce qui a été établi par le compteur différentiel de rayonnement beta.

58 Co paraît pouvoir être utilisé et interprété à l'égal de 60 Co; comme il apparaît du dosage de la radio-activité fécale après administration d'une dose de 0,6 microgramme de vitamine B 12 radio-active, le matin à jeûn; aucune prise d'aliment n'étant faite avant deux heures. On recueille les selles jusqu'à ce que moins de 1 pour 100 de radio-activité soit trouvé dans deux selles consécutives. Celles-ci sont mises dans le compteur standard et leur radio-activité est mesurée à l'aide d'un compteur annulaire comportant huit tubes Geiger. Les résultats comparatifs entre 60 Co B 12 et 58 Co B 12 ont été concluants :

(Voir tableau page 25)

Rien ne s'oppose donc, sur le plan biologique, à ce que 58 Co soit utilisé en place de 60 Co pour rendre la vitamine B 12 radio-active.

Radio-activité des selles

	60 Co B 12	58 Co B 12
administrée dans l'eau pure	100 %	95 %
dans 20 ml suc gastrique	70 %	73 %
avec facteur intrinsèque	28 %	33 %

BAKER et MOLLIN, en 1955, n'ont utilisé que 58 Co dont ils préconisent l'emploi, moins nocif, permettant des tests répétés chez un même sujet, et donnant des résultats superposables à ceux de 60 Co. Ils ont ainsi pu pratiquer des tests avec des doses variables de vitamine B 12, associées soit au suc gastrique, soit au facteur de Castle, à des doses également variables. C'est ainsi qu'une expérience réalisée chez un même sujet a consisté en administration de facteur intrinsèque à dose constante, mais à dose de vitamine B 12 radio-active croissante, allant de 0 microgramme 4 à 1 microgramme 50; les quantités de vitamine B 12 absorbées figurent à côté des quantités reçues, et comme la dose de vitamine B 12 augmente à chaque test, la proportion de la quantité absorbée diminue, la quantité absolue de vitamine B 12 absorbée demeurant constante. Les résultats de l'épreuve doivent alors être exprimés en termes de microgrammes de vitamine B 12 absorbés, et non plus en proportion de l'excrétion par rapport à l'ad-

ministration, ce qui était la technique habituelle avec le test unique commandé par 60 Co.

BERLYNE, en 1957, a utilisé la vitamine B 12 marquée par ^{56}Co , dont la période est de 72 jours, et dont l'emploi est dépourvu de risques. Il dilue la vitamine B 12 marquée afin d'obtenir une concentration de 0,5 microgramme par millilitre et il ajoute la vitamine B 12 non radio-activée pour porter le taux total à 2 microgrammes par millilitre. Il administre au sujet par voie buccale un ml de la préparation, et calcule ensuite à l'aide d'un compteur à scintillation la radio-activité des urines émises, ce qui permet de calculer la proportion de ^{56}Co excrétée. Si l'absorption se révèle défectueuse, le test est répété avec l'adjonction, à la préparation, de 100 mg de facteur intrinsèque.

ABELS, enfin, a entrepris ses expériences cliniques avec une vitamine B 12 marquée par ^{56}Co (57) à la dose de 1 mcg par voie buccale, en même temps qu'une dose de un mg de vitamine B 12 non radio-active par voie sous cutanée, deux, puis 24 heures plus tard. La radio-activité des urines émises est en suite déterminée.

Avec ^{56}Co , le marquage de la vitamine B 12 donne donc des résultats superposables à ceux de ^{60}Co , et fait tomber les critiques que l'on avait pu élever contre ce test et d'une part son inconvénient : épreuve unique, d'autre part ses risques radio-actifs du fait de la période de cinq années de ^{60}Co .

III

ETUDE TECHNIQUE ET BIOLOGIQUE

-:-

R.F. SCHILLING, en 1953, mettait au point un test permettant, par la détermination de la radio-activité des urines émises après administration par voie buccale de vitamines B I2 marquée, d'apprécier l'activité du facteur intrinsèque de Castle chez les sujets normaux et chez les Biermériens en rémission ou en reprise.

Cet auteur partait de faits déjà bien établis :

l'administration par voie buccale de suc gastrique humain normal et de petites quantités de vitamine B I2 favorise l'hémopoïèse chez des Biermériens en rechute, alors que des quantités égales de vitamine B I2 administrées seules sont généralement inactives. La vitamine B I2 par voie veineuse ne voit pas son effet hémopoïétique augmenté par l'administration simultanée et intra-veineuse d'un facteur intrinsèque présent dans le suc gastrique, à des doses connues pour être actives per os.

La vitamine B I2 par voie parentérale corrige les anomalies hématologiques de l'anémie biermérienne.

HEINLE, le premier, a montré que l'excrétion fécale de la radio-activité de vitamine B I2

marquée par ^{60}Co , administrée à la dose de 0,5 microgramme per os, était plus grande chez les Biermériens que chez les sujets normaux. L'administration simultanée par voie buccale d'une préparation de facteur intrinsèque et de vitamine B 12 marquée par ^{60}Co a sensiblement diminué la radio-activité des selles chez les Biermériens. L'interprétation la plus simple de ces faits est que le facteur intrinsèque a pour fonction de favoriser l'absorption intestinale de la vitamine B 12.

R.F. SCHILLING a donc établi les chiffres de radio-activité urinaire chez des sujets normaux, chez des Biermériens en rémission ou en activité, obtenus après administration de vitamine B 12 marquée par ^{60}Co , et donnée soit seule, soit en association avec le suc gastrique humain normal, donc contenant le facteur de Castle. Celui-ci augmente l'activité hémopoïétique de la vitamine B 12 chez les normaux, chez les Biermériens en rémission, sans doute en favorisant le transport de la vitamine à travers la muqueuse digestive.

Les premiers essais ont été faits chez les sujets normaux, qui ont reçu 2 microgrammes de B 12 radio-activée par ^{60}Co , per os, et, deux heures plus tard, 1.000 microgrammes de B 12 non radio-active par voie sous-cutanée. Quatre à six heures après la prise buccale de l'isotope, la radio-activité commence à apparaître dans les urines, et persiste au moins 20 heures.

Dans le cas d'anémie biermérienne, la radio-activité urinaire n'est pas apparue pendant les 24 heures qui ont suivi l'administration de B 12 marquée. Mais en période de rémission, ces mêmes Biermériens se sont comportés davantage comme des normaux, avec émission d'urines radio-actives. Ainsi, la vitamine B 12 est absorbée en

présence du facteur intrinsèque, donc dans les conditions normales, cette absorption étant déficiente lorsque ce facteur de Castle est soit absent, soit insuffisant, soit inactif.

Pour vérifier ces premières constatations, R.F. SCHILLING a recherché avec précision les effets du suc gastrique (contenant le facteur intrinsèque) sur l'excrétion urinaire de la radio-activité après administration par voie buccale de vitamine B 12 marquée.

La vitamine traceuse était une vitamine B 12 contenant du 60 Co et ayant une activité spécifique de 245 microcuries par milligramme. Dans un compteur Geiger sans fenêtre, ce même matériel avait donné environ 280.000 comptes par minute par microgramme. Les urines ont été recueillies pendant les 24 heures qui ont suivi l'ingestion par voie buccale de la vitamine B 12 marquée, et leur radio-activité a été mesurée après évaporation de 2 ml jusqu'à dessiccation, placés ensuite dans le compteur Geiger. Pour chaque expérience, deux échantillons ont été utilisés et leur radio-activité précisée.

Les détails techniques ont été les suivants:

- le sujet à jeûn est prié d'uriner; puis il reçoit par voie buccale 2 microgrammes de 60 Co-B 12 dans du liquide, à 8 h. 30, et une heure plus tard il peut prendre son petit déjeuner. Deux heures après la prise buccale de vitamine B 12 marquée, chaque sujet reçoit par voie sous-cutanée 1.000 microgrammes de vitamine B 12 non radio-active. Les urines sont recueillies à 10 h. 30, midi 30, 14 h. 30, 16 h. 30, 20 h. 30 et le lendemain matin à 8 h. 30. La radio-activité des urines émises en

24 heures est alors calculée. Les repas ont été pris normalement. Les résultats ont été les suivants:

- Six sujets normaux ont tous excrété des quantités notables d'urines radio-actives après une dose per os de 2 microgrammes de B 12 radio-active dans 100 ml d'eau et 1.000 microgrammes de B 12 non radio-active par voie sous-cutanée.
- Six Biermériens en rémission n'ont pas présenté de radio-activité dans les urines émises après administration de B 12 ⁶⁰Co par voie buccale, dans l'eau, ou dans du suc gastrique ayant été porté à ébullition. Mais, chez ces mêmes malades, l'administration de vitamine B 12 radio-active par voie buccale dans du suc gastrique actif a entraîné une émission d'urines radio-actives à partir de la sixième heure. Le plasma de ces mêmes sujets n'a pas présenté de radio-activité décelable. Dans un cas où le suc gastrique actif a été donné douze heures avant la prise buccale de B 12 radio-active et dix heures après l'injection de B 12 non radio-active, aucune radio-activité urinaire n'était encore apparue 36 heures après l'ingestion de l'isotope.

La terramycine n'a eu aucune influence sur l'émission d'urines radio-actives. Enfin, il a été constaté l'absence de radio-activité des urines lorsqu'après la dose d'isotope il n'a pas été administré de vitamine B 12 non radioactive, malgré l'administration de suc gastrique, qu'il s'agisse de sujets normaux ou de Biermériens.

HEINLE a fait des constatations analogues: les Biermériens en rémission recevant la vitamine B 12 ⁶⁰Co par voie buccale en même temps que le facteur intrinsèque, ex-

crètent par les feces moins de réactivité que lorsque la B 12 60 Co est administrée sans facteur de CASTLE, ce qui fut considéré comme un nouveau moyen d'étude de l'activité du facteur intrinsèque. MEYER a rapporté des résultats quelque peu différents de ceux de HEINLE, mais la dose administrée était de 1 microgramme de vitamine B 12 60 Co, alors que HEINLE ne donnait que 0,5 microgramme de B 12 radio-active; il se peut alors que les doses élevées administrées par MEYER aient obscurci l'effet du facteur intrinsèque. LEY a montré que l'administration simultanée de facteur intrinsèque et de vitamine B 12 marquée entraînait une diminution de la radio-activité fécale chez les malades totalement gastrectomisés recevant l'isotope par voie buccale. CONLEY, MOLLIN et ROSS, ont constaté que lorsque la dose de vitamine B 12 administrée par voie parentérale est augmentée, le pourcentage de cette dose apparaissant dans les urines dans les 8 à 12 heures suivantes, s'élève. Au taux de 1.000 microgrammes de vitamine B 12 par voie sous-cutanée, 80 à 100 % environ de la dose apparaît dans les urines en 24 heures. SCHILLING a alors pensé que l'injection parentérale de fortes doses de B 12 non radio-active pourrait augmenter le pourcentage d'excrétion de la 60 Co-B 12, ce qui fut en effet vérifié. La radio-activité des urines fut facilement constatée chez des sujets normaux recevant une dose de B 12 radio-active per os et une injection parentérale assurant la saturation en B 12 non radio-active. Les sujets normaux à qui on n'injecte pas de B 12 par voie parentérale ne présentent pas de radio-activité urinaire après une dose par voie buccale de 2 microgrammes de B 12 60 Co.

Les résultats obtenus par SCHILLING n'apportent aucune preuve de l'excrétion rénale de ^{60}Co ; les urines ne sont radio-actives que lorsque le rein excrète de grande quantités de B 12 non radio-active, ce qui laisse à penser que la radio-activité siège dans une molécule compétitive avec la vitamine B 12 non radio-active dans les mécanismes de réabsorption rénale. Une explication séduisante serait que la B 12 non radio-active administrée par voie parentérale saturerait la capacité plasmatique à fixer B 12; ainsi la B 12 radio-active absorbée à partir de l'intestin ne serait pas liée aux protéines plasmatiques, et donc apparaîtrait dans le filtrat glomérulaire. L'étude électrophorétique sur papier d'un mélange de sérum et vitamine B 12 radio-active a montré qu'une certaine quantité de vitamine migre avec une fraction albuminique tandis que l'autre fraction de la vitamine migre comme elle le fait lorsqu'elle est soumise à l'électrophorèse sur papier, dans une solution saline.

1.- Mesure de la radio-activité de l'excrétion urinaire :

Ce fut donc, nous l'avons vu, le principe même du test original de SCHILLING. Ce test continue à être utilisé, mais souvent avec des variantes.

C'est ainsi que MASLOW, DONNELLY, KOPPEL et SCHWARTZ, en 1957, ont modifié comme suit le test de SCHILLING : en ce qui concerne en particulier les quantités et l'activité spécifique de la vitamine B 12 marquée par ^{60}Co , et aussi la méthode de comptage des échantillons urinaires. Le malade évacue sa vessie à zéro heure. Puis il boit le contenu d'une capsule contenant 0,5 microcuries (et dans les essais plus récents, 0,25 microcuries seulement) de ^{60}Co dans 0,66 microgram-

mes de vitamine B 12. Une heure plus tard, il prend un petit déjeuner léger de café noir et pain grillé sec. Deux heures après l'ingestion de B 12 marquée, il reçoit par voie sous-cutanée une dose de 1.000 microgrammes de B 12 non radio-active. On recueille la totalité des urines des 24 heures depuis le moment de l'ingestion de B 12 marquée, à condition que le volume soit d'au moins 500 ml. La radio-activité est exprimée en pourcentage de la dose ingérée et trouvée dans les urines des premières 24 heures : cette quantité est dite détermination basale. Trois jours plus tard, un nouveau test est pratiqué avec cette différence que l'ingestion de B 12 radio-active s'accompagne simultanément d'une préparation de facteur intrinsèque, la dose optimale ayant été de 39 microgrammes, d'une préparation dépourvue de toute vitamine B 12 (test microbiologique). La radio-activité urinaire des 24 heures excrétée, exprimée en pourcentage de la dose prise par voie buccale, et après adjonction du facteur intrinsèque, est dite détermination standard. La radio-activité est déterminée en plaçant un litre aliquot (obtenu en diluant à un litre en cas de volume urinaire initial inférieur à ce litre) directement au-dessus d'un scintillomètre dans un tube de plomb. Des standards préparés à partir du même lot de 60 Co-B 12 utilisé dans l'épreuve correspondent à 5, 10, 15, 20 et 25 % de l'excrétion. Les comptes obtenus avec ces standards sont exprimés par des points et donnent une ligne droite graphique à partir de laquelle les comptes ultérieurs seront facilement convertis en excrétion en pourcentage. Cette technique a, sur la méthode originale, l'avantage d'utiliser des aliquots de 2 ml à 3 ml d'urine dans un compteur scintillométrique bien réglé, avec une sensibilité 20 fois plus forte, en même temps qu'une base plus faible et plus constante; l'erreur a été de ± 2 % avec cette technique. Les

tests pratiqués par MASLOW chez 110 sujets ont montré que la ligne de base normale, témoin, a été en moyenne chez les sujets normaux, avec une absorption vitaminique B I2 non perturbée, de $20\% \pm 1\%$; avec une marge allant de 10,7 % à 35,5%.

Dans l'anémie biérmérienne, cette ligne moyenne basale a été de $2,24\% \pm 0,19\%$, avec une marge entre 0 % et 6,9 %.

La ligne basale moyenne dans l'anémie biérmérienne après administration de facteur intrinsèque a été de $15\% \pm 0,55\%$ avec une marge entre 8 % et 27,2 %. Après guérison de la maladie de Biermer, les résultats moyens ont été de $12,76\% \pm 0,49\%$, avec une marge entre 5,7 % et 22,3 %. Les valeurs dans la sprue et les affections analogues se sont situées dans la marge de l'anémie biérmérienne, mais avec cette différence qu'elles n'ont pas été modifiées par l'adjonction de facteur intrinsèque à la vitamine B I2 marquée.

BERLYNE et ses collaborateurs ont recherché un moyen plus simple que le titrage du sérum pour établir l'absence d'absorption de vitamine B I2 dans certains états de dégénérescence médullaire. Ils se sont donc adressés à la B I2 marquée par 56 Co , la vitamine radio-active étant diluée de telle sorte qu'elle représente un taux de 0,5 microcuries par millilitre et ils ont ajouté B I2 non radio-active pour atteindre un taux de 1 mcg par millilitre. On a donné aux malades 1 millilitre de cette préparation par voie buccale et la proportion de 56 Co apparue dans les urines a été déterminée avec un compteur à scintillomètre. Si l'on constate un trouble de l'absorption, on répète le test en ajoutant à la préparation radio-active 100 mg de facteur intrinsèque ; les sujets normaux ont excrété 4 à 7 % de la dose de vitamine B I2 ; en cas de dégénérescence médullaire subaiguë, ce taux n'était que de 0,6 % . Si l'adjonction de facteur

intrinsèque n'amène pas l'excrétion radioactive à des taux normaux, c'est que l'anomalie initiale n'est pas un défaut de production du facteur de Castle et que l'état n'est pas une dégénérescence subaiguë mixte.

L.D. MACLEAN a utilisé un test très voisin de celui de SCHILLING avec une dose par voie buccale de 0,37 à 0,9 mcg de vitamine B 12-60 Co d'une activité spécifique de 769 millicuries par mg, et simultanément une injection sous-cutanée de vitamine B 12 non-radioactive, deux heures après la prise de l'isotope. Des urines des 24 heures, des échantillons de 5 ml ont été prélevés et déterminés pour leur radioactivité.

Des malades gastrectomisés, totalement ou partiellement, se sont comportés comme des Biermériers, avec élimination radio-active pratiquement nulle; mais celle-ci a pu être élevée par l'adjonction de facteur intrinsèque. Les réponses ne sont pas influencées par une diarrhée grave - qui rend impraticable le test sur radio-activité fécale. La substance radio-active dans les urines ne peut être distinguée, par la chromatographie, de la vitamine B 12 alors qu'elle apparaît dans les selles comme une forme liée ou dégradée avec la possibilité qu'un composé actif pour l'hémopoïèse et présent dans la molécule Vitamine B 12-60 Co puisse être absorbé même s'il apparaît une quantité élevée de substance radio-active dans les selles. MACLEAN préfère donc le dosage de la radio-activité urinaire à celui de la radio-activité fécale, la première technique permettant la différenciation entre achylie gastrique et achlorhydrie. PITNEY a utilisé un test de SCHILLING modifié en donnant une dose standard per os de 0,6 mcg de vitamine B 12 marquée par 60 Co; la radioactivité urinaire moyenne des 48 heures pour 22 témoins a été de 23,9 % de la dose

per os. Des résultats analogues ont été trouvés chez cinq malades atteints d'anémie mégalo-blastique par carence en acide folique ; dans 15 cas de rechutes biernériennes, par contre, la radioactivité urinaire moyenne est tombée à 2,4 %, mais est remontée à 19,6 % lorsque l'isotope a été accompagné de facteur intrinsèque.

Nouvelle modification du test de SCHILLING apportée cette fois par ABELS, qui donne par voie buccale une dose de 1 mcg de B 12 marquée par 56-57 Co, puis par voie sous-cutanée, deux ; puis 24 heures plus tard, 1 mg de vitamine B 12 radio-active. Le pourcentage de radio-activité excrétée dans les urines a été en moyenne de 29,2 % (entre 14,2 et 46,4 %) chez 30 sujets normaux ; de 1,8 % en moyenne (entre 0,1 et 4,4 %) chez 20 Biernériens, l'adjonction dans un nouveau test, de suc gastrique humain neutralisé donné par voie buccale en même temps que l'isotope, a élevé chez ces 20 malades la radio-activité urinaire à 21,2 % en moyenne (entre 11,9 et 35,9 %). Les perturbations constatées dans la sprue n'ont pas été corrigées par l'administration simultanée du facteur intrinsèque. ABELS pense qu'un trouble de la fonction rénale pourrait être responsable de la diminution de l'excrétion d'urines radio-actives. Il conclut que le test est de grande valeur dans le diagnostic des anémies biernériennes atypiques à forme neuropathique sans dyscrasie sanguine, ou après rémission, et dans le diagnostic différentiel des anémies mégalo-blastiques.

Même avis favorable enfin de la part de BONARD et INDEMINE, qui appliquent le test de Schilling dans sa technique initiale, ingestion de B 12 marquée, inondation de l'organisme par une dose massive (1000 gam-

mas) de B I2 non radio-active ; collection des urines des 24 heures, détermination de la radio-activité exprimée en pourcentage de la dose ingérée. La méthode peut être utilisée à n'importe quelle phase d'une anémie, même en pleine rémission, dans des anémies hyperchromes récentes ou anciennes : on peut ainsi affirmer l'absence de sécrétion du facteur intrinsèque endogène, ou établir que le facteur causal siègeait ailleurs, anémie nutritionnelle, stéatorrhée.

2.- Mesure de la radio-activité de l'excrétion fécale :

Nous en avons déjà dit quelques inconvénients et limites, par exemple dans les états pathologiques comportant des troubles du transit, des diarrhées. Il ne semble pas que cette technique soit largement utilisée. Elle a été pratiquée en premier, semble-t-il, par HEINLE qui avait constaté chez quatre Biermériens que l'excrétion fécale de la radio-activité de 0,5 microgramme de vitamine B I2 marquéé par ^{60}Co per os était sensiblement plus élevée que chez les sujets normaux, mais pouvait être sensiblement réduite par l'adjonction à B I2 radio-active de facteur intrinsèque. CALLENDER, en 1954, HALSTED, la même année avaient confirmé ces résultats, mais la méthode fut jugée mal commode et difficilement applicable par L. MEYER et ses collaborateurs.

o

3.- Mesure de la radio-activité superficielle :

C'est la technique utilisée avec l'iode radio-actif I I3I dans la mesure de l'ac-

tivité thyroïdienne. Avec B 12 marquée, on a surtout cherché à calculer le pourcentage de radio-activité au niveau de l'aire hépatique, puisque le foie retient tout particulièrement la vitamine B 12 et joue un rôle important en hématologie. B.J. GLASS a consacré d'importantes recherches à l'étude de la fixation de B 12-60 Co au niveau du foie, chez le sujet normal et chez le sujet atteint d'hémopathie.

. Chez un individu normal, GLASS a injecté par voie intra-musculaire 5 microgrammes de vitamine B 12 radio-active, contenant 0,925 microcuries de 60 Co. Les déterminations de scintillation superficielle ont été faites en contact direct avec la peau à 1.000 volts, avec une base de 60 et 70 comptes par minute. Chaque compte est la moyenne de plusieurs comptes sur les projections cutanées des organes étudiés. Chez ce sujet normal, la radio-activité atteint son sommet au niveau des organes abdominaux au cours du premier jour qui suit l'injection, puis décroît graduellement. Mais en ce qui concerne l'aire hépatique, la radio-activité au contraire continue à augmenter jusqu'au sixième jour, à ce moment elle est quadruple de celle des autres organes abdominaux. Cette radio-activité hépatique demeure à peu près stable pendant le premier mois, ce qui est très avantageux pour les déterminations au compteur. C'est d'ailleurs ce qui avait été auparavant constaté chez le Rat (CHOW, ROSENBLUM, HARTE).

. Une fois établie cette possibilité d'enregistrer au scintillographe la radio-activité au niveau du foie après injection d'isotope, GLASS a étudié la fixation hépatique de B 12 marquée et ingérée par voie buccale. L'obstacle principal provenait des radiations transmises au foie par les organes adjacents du tractus digestif, qui contenaient la vita-

mine marquée dans leur lumière. Pourtant dans la plupart des cas il a été possible de dissocier les comptes hépatiques des comptes provenant des autres organes abdominaux, en particulier lorsqu'un purgatif puissant est administré le 4ème jour après l'ingestion de 60 Co-B 12. Tout d'abord, à la suite de l'ingestion de 1 microgramme de B 12 radio-active contenant 0,2 microcuries de 60 Co, les comptes abdominaux dépassent ceux du foie; puis, par la suite, aux environs du troisième jour, alors qu'une grande partie de la substance radio-active a quitté le tractus intestinal, les déterminations de la radio-activité hépatique ont donné des chiffres très supérieurs à ceux du reste de la surface abdominale, pour devenir, vers le 6 ou 7ème jour, de 2 ½ à 4 fois plus élevés au niveau de l'aire hépatique. Ce n'est que lorsque l'évacuation intestinale est insuffisante que la radio-activité superficielle abdominale reste supérieure à celle de l'aire hépatique. Il faut alors donner un laxatif doux. Des résultats analogues ont été obtenus avec une dose buccale de 2 microgrammes de B 12 radio-active contenant 0,4 microcuries de 60 Co. Au cinquième jour, la radio-activité au niveau du foie était trois fois plus élevée qu'au niveau du reste de la paroi abdominale. Cette technique est actuellement utilisée pour le titrage du facteur intrinsèque, et même la seule acceptée aux Etats-Unis par le Service des Anti-anémiques, puisqu'elle permet de mesurer les réponses réticulocytaire et érythrocytaire des Biermériens en rechute (G.R. MINOT).

GLASS et ses collaborateurs ont utilisé une vitamine B 12 radio-active contenant 60 Co et de deux activités spécifiques différentes :

38 microcuries par mg,

90 microcuries par mg.

. Les solutions ont été diluées avec de l'eau stérilisée, ou avec une solution stérile de vitamine B 12 cristallisée non radio-active afin d'adapter le taux entre élément radio-actif et élément non radio-actif dans des proportions appropriées aux besoins du test et cela pour chaque sujet.

.Un détecteur à scintillations à angle large sans collimateur et avec un tube photomultiplicateur, une fenêtre épaisse et une échelle scintillométrique sans amplificateur a été utilisé pour cette étude. Les enregistrements scintillographiques ont été réalisés à 1.000 volts : à ce voltage, les courbes calibrées avec les standards de B 12 radio-active ont montré que dans la marge scintillométrique utilisée, les rapports entre comptes de B 12 et les déterminations basales ont été optima. Avec la fenêtre épaisse utilisée, ce sont essentiellement les rayons gamma qui ont été enregistrés.

.Des standards contenant des quantités mesurées avec précision (0,01-0,04 microcuries) de B 12 radio-active ont été utilisés pour cette étude, afin de corriger les variations quotidiennes dans l'efficacité de l'instrument et les déviations dans le courant de haut voltage. Par calcul on a pu effectuer la correction voulue. Un rapport linéaire a été obtenu entre le nombre des désintégrations/minute au-dessus de la valeur de base et les teneurs en B 12 radio-active dans les standards. Les déterminations superficielles de la radioactivité ont été pratiquées sur les aires cutanées de projection de divers organes, par application directe du détecteur à scintillomètre sur la peau. Les déterminations ont été faites au moins à deux heures des repas, le malade étant allongé, le tube du détecteur étant placé

perpendiculairement sur le revêtement cutané, la pression exercée par le tube ne devant pas dépasser le poids de celui-ci. La projection cutanée du foie a été déterminée sur la peau au moyen de la palpation et de la percussion, avec contour dessiné au crayon. En dehors du foie, des zones topographiques ont été étudiées de la même manière région épigastrique supérieure, extrémité du xyphoïde, région épigastrique centrale, région péri-ombilicale, région abdominale inférieure, hypocondres droit et gauche, projections hépatique ; antéro-latérale, latérale, antérieure, régions lombo-sacrées droite et gauche, cuisses, avant-bras, etc.. Pour chaque région, le nombre des désintégrations a été enregistré chaque fois deux minutes, avec des séries de 10 ou 12 positions différentes du tube par séance. Ces déterminations ont été faites par GLASS chez cinq sujets indemnes de toute anémie. Les doses injectées par voie intra-musculaire ont été pour la B 12 radio-active :

- chez le premier malade : 10 microgrammes soit 0,925 millicuries;
- chez le second malade : 5 microgrammes, soit 0,185 millicuries;
- chez le troisième malade :
 - 2 microgrammes, soit 0,185 millicuries
 - 2 microgrammes, soit 0,185 millicuries
 - 10 microgrammes, soit 0,925 millicuries
- chez le quatrième malade : 10 microgrammes, soit 0,925 millicuries;
- chez le cinquième malade : 2 microgrammes, soit 0,425 millicuries.

Les rapports maximaux vis-à-vis de la radio-activité de l'aire hépatique exprimée par le chiffre 1 (après l'injection intra-musculaire de 10 microgrammes de B 12 radio-active contenant 0,925 millicuries de ^{60}Co)

ont été pour les diverses régions du corps et chez trois malades :

aire de projection du foie	1.00	1.00	1.00
aire de projection du rein gauche	0.40	0.28	0.38
aire de projection de la rate	0.40	0.25	0.52
crête iliaque gauche	0.14	0.22	0.16
milieu cuisse gauche	0.06	0.03	0.03

La marge des désintégrations maxima de radio-activité par minute sur diverses régions du corps après l'injection intra-musculaire de 10 microgramme de B 12 radio-active contenant 0,925 millicuries de 60 Co a été pour trois sujets (moyennes) :

Régions du corps (cutanées)	désintégration/ minute
projection du foie	650-1190
projection de la rate	300-350
projection du rein gauche	245-330
crête iliaque gauche	105-255
cuisse gauche	22-47

La persistance du stockage de B 12 radio-active dans le foie, plusieurs mois après l'administration parentérale de l'isotope marqué, constatée après l'administration par voie buccale de 60 Co-B 12 soulève le problème de la cause de cette radio-activité résiduelle :

- dépôt du 60 Co détaché de la molécule de

vitamine B 12 au cours de son métabolisme dans la glande hépatique, ou

- dépôts de la vitamine B 12 contenant 60 Co ce qui paraît plus vraisemblable d'après les expériences sur l'animal. En effet, si 60 Co est injecté seul, et non couplé avec B 12, 65 p. cent de l'isotope radio-actif sont excrétés dans les urines, et 35 pour 100 dans les feces, cela en l'espace de quelques jours. Il est donc probable que la radio-activité décelée sur l'aire hépatique plusieurs mois après l'injection de B 12 marquée est bien due à la présence de 60 Co-B 12 dans le foie. Le lent déclin de la radio-activité dans le foie indiquerait alors que la glande possède une grande capacité à stocker la vitamine B 12 et reflète bien la haute teneur du foie en vitamine B 12, ce qui est nettement établi. Enfin, si nous admettons que la longue persistance de la radio-activité dans le foie est due au stockage de la molécule globale 60 Co-B 12 et non pas à la fixation du seul 60 Co après son détachement de B 12 dans le foie, nous pouvons ainsi expliquer la longue période de temps nécessaire à l'épuisement des réserves de vitamine B 12 et à l'apparition de l'anémie macrocytaire après gastrectomie totale ; on peut également expliquer que de longues périodes de rémission puissent être observées dans l'anémie Biermérianne à la suite du traitement.

GLASS a observé une proportion stricte entre l'augmentation des doses de substances radio-actives administrées et l'augmentation de la fixation de la radio-activité au niveau du foie. Chez un sujet témoin, on a trouvé un taux moyen de désintégrations au niveau du

foie, équivalent à 19 pour 100 du taux de désintégrations maxima sur le foie chez un autre témoin : 795 et 151 désintégrations/minute respectivement. Ce qui reflète exactement les doses de produit radio-actif administrées, et qui pour le second témoin était de 20 p.100 de la dose reçue par le premier. Chez un biermérien, la fixation de B 12 radio-active par le foie a été 3,5 plus grande à son maximum que lorsque'une dose cinq fois plus forte de substance radio-active (0,925 mcg) a été injectée, la première dose ayant été de 0,185 millicuries : 647 pour la seconde dose et 121 pour la première, cinq fois plus faible. (ces chiffres exprimant les désintégrations/minute). Ce qui tend à montrer que la technique de l'isotope marqué est parfaitement indiquée pour l'étude de l'ampleur du stockage de B 12 radio-active par le foie.

Il faut être prudent dans la comparaison des résultats obtenus d'un sujet à l'autre, car bien des facteurs modifient les chiffres exprimant la fixation de la radio-activité ; poids du corps, différences structurales modifiant la distance des organes à la surface cutanée, autant d'influences qui modifient les résultats. On ne rapprochera divers sujets que s'ils sont très proches par le poids, la constitution mais aussi par leur position métabolique, car il est bien évident que l'état de saturation ou de désaturation de l'organisme en vitamine B 12 va pouvoir influencer la rétention tissulaire et l'élimination urinaire de la vitamine.

On a également observé que la fixation de la radio-activité dans le foie, à doses égales de 60 Co-B 12 par voie parentérale, a été plus élevée chez les sujets ayant subi une gastrectomie totale ; un sujet normal,

un Biermérien en rémission, ont des fixations bien inférieures. Il est possible que chez le gastrectomisé total, le cycle de la vitamine B I2 soit accéléré, comme le prouverait la fixation radio-active hépatique atteignant son maximum deux jours plus tôt, avec des taux $1\frac{1}{2}$ à $2\frac{1}{2}$ plus élevés, et une chute plus brusque, les chiffres étant la moitié des valeurs des contrôles au niveau de l'aire hépatique, dix semaines après l'injection. Il est pourtant impossible de trancher s'il s'agit là d'une insaturation accrue des réserves de B I2 par suite d'une gastrectomie totale, par suite d'une mauvaise absorption intestinale de la vitamine.

Ces études de radio-activité superficielle après administration parentérale de vitamine B I2 marquée par ^{60}Co permettent quelques conclusions :

La vitamine B I2 radio-active injectée semble disparaître du point d'injection en trois à quatre heures, et pendant ce temps la radio-activité s'élève à ses valeurs maxima au niveau des aires cutanées correspondant au rein, à la rate, à la crête iliaque, et un peu plus tard au niveau des muscles des extrémités. Par la suite, la radio-activité décline sur la rate, le rein, les extrémités, de sorte qu'au bout de 3 mois, le sujet normal présente des radio-activités correspondant au tiers ou à la moitié des taux maxima pour la rate et le rein, au quart pour les muscles.

Pour l'aire de projection du foie, il faut de 5 à 6 jours pour que le sommet de la radio-activité soit atteint. Mais le maximum est beaucoup plus élevé que dans les autres régions, deux fois et demi les taux spléniques et rénaux, 7 fois le taux de la crête iliaque, 17 fois le taux des muscles. Puis la chute de la radio-activité hépatique est très lente et très faible.

Les modalités de la fixation de B 12 radio-active injectée sont chez le gastrectomisé total très proches de celles du sujet normal. Chez les Biermériens en rémission partielle, les taux de fixation spléniques et rénaux sont un peu plus élevés que chez le sujet normal, et analogues pour le foie. De 65 à 86 pour cent de la radio-activité maximale ont persisté au niveau du foie deux à trois mois chez des sujets normaux.

Au bout de cinq mois, 60 pour 100 du maximum initial de la radio-activité persistaient encore sur l'aire hépatique chez un sujet atteint de sprue en rémission, 85 pour cent chez un Biermérien en rémission partielle, et 35 pour cent à la fin du huitième mois chez un gastrectomisé total sans anémie (GLASS) ce qui ne tient pas compte de la désintégration normale de ^{60}Co , qui est d'environ 1 pour 100 par mois.

La présence persistante de l'isotope dans le foie correspond vraisemblablement au stockage de la vitamine marquée en tant que telle, puisqu'au cours du métabolisme de B 12 la glande hépatique joue un rôle essentiel. On comprend alors la lenteur avec laquelle les réserves hépatiques en B 12 s'épuisent, et aussi les rémissions prolongées assurées par la thérapeutique parentérale par extraits de foie ou vitamine B 12 dans l'anémie de Biermer.

- IV -

ETUDE CLINIQUE

-:-

Les applications pratiques de la vitamine B 12 radio-active dérivent toutes de la recherche de l'activité - ou de l'absence de cette activité- du facteur intrinsèque de CASTLE, autrement dit, il s'agit de tests d'exploration fonctionnelle et étiologique dans le diagnostic des diverses formes d'anémie. Si le facteur intrinsèque est en cause, on peut limiter le diagnostic aux anémies relevant de cette origine, et au premier rang desquelles se situe, par importance et par fréquence, la maladie de Biermer. Si les épreuves par la vitamine B 12 marquée établissent que la facteur intrinsèque est normalement présent et actif, la cause de l'anémie devra être recherchée ailleurs.

C'est donc essentiellement dans le diagnostic positif et différentiel de l'anémie de Biermer que l'emploi de la B 12 marquée par le Cobalt radio-actif trouve ses indications.

° ° °

I - Anémie de Biermer : diagnostic positif.

Conditionnée par une insuffisance quantitative ou qualitative du facteur intrinsèque de Castle, l'anémie de Biermer pourra être établie d'après les déterminations de la fixation de B 12-60 Co dans le foie ; la technique est si sûre et si spécifique qu'elle est utilisée comme méthode de titrage du fac-

teur intrinsèque (G.B. GLASS).

On admet classiquement que le trouble fondamental de la maladie de Biermer est l'absence d'activité du facteur intrinsèque. Il semble cependant plus plausible de dire que le facteur intrinsèque voit sa production très diminuée, plutôt que totalement abolie, il s'agit donc plutôt d'un état de déficit relatif, plutôt que d'un épuisement total de B 12.

Des explorations biologiques ont en effet montré que chez les Biermériens le facteur intrinsèque existait, en proportion certes inférieure à la normale, et même au cours de rechutes.

Le test par la vitamine B 12 radio-active permet d'une part d'affirmer l'anémie de Biermer du fait de l'absence ou de la réduction importante du facteur intrinsèque, d'autre part d'incriminer ce facteur puisque son administration dans une seconde épreuve va améliorer le métabolisme de la vitamine B 12 . MASLOW et ses collaborateurs ont pratiqué 110 tests, dont 75 dans des anémies de Biermer ; 62 fois celles-ci n'étaient pas compliquées d'une lésion gastro-intestinale haute ; quatre fois cette lésion était présente. Dans 9 cas enfin l'anémie de Biermer avait été diagnostiquée avec certitude, alors que les tests par B 12 radio-active n'ont pas donné de résultats très nets.

L'absorption de base de la vitamine B 12 chez des sujets normaux a été en moyenne dans les essais de MASLOW de 20 p. cent ; cette valeur chez le Biermérien a été en moyenne de 2,24 p. cent ; après administration de facteur intrinsèque à ces malades, l'épreuve a donné une absorption plus proche de la normale : 15 pour cent. Et si dans des anémies

macrocytaires non biermériennes, la valeur initiale de l'absorption de B 12 radio-active a été sensiblement dans la marge des valeurs trouvées chez les Biermériens, le diagnostic différentiel n'en a pas moins pu être établi avec netteté parce que dans ces anémies non biermériennes, l'adjonction du facteur de Castle à l'isotope ne modifie pas l'absorption de B 12.

MASLOW cite un cas d'anémie Biermérienne avec diverticule gastrique : ici encore, par le test de Schilling (détermination de la radio-activité des urines) on a pu trouver une absorption très abaissée, à 4,1 pour cent. Mais si l'on admet classiquement que dans l'anémie de Biermer, le trouble d'absorption de la vitamine B 12 est souvent provoqué par une anomalie de la muqueuse gastrique, il devient de plus en plus évident qu'une atteinte de la muqueuse intestinale peut elle aussi entraîner un trouble de l'absorption de B 12 et donc être responsable du tableau Biermérien. MASLOW pense que les troubles de l'absorption intestinale sont loin d'être aussi exceptionnels dans l'anémie de Biermer qu'on ne l'admet généralement. On a pu constater des atrophies de la muqueuse jéjunale très proches des atrophies de la muqueuse gastrique, et pouvant entraîner l'anémie de Biermer chez les gastrectomisés. Dans d'autres cas, ces lésions d'atrophie muqueuse intéressent simultanément l'estomac et un étage intestinal. Mais à l'opposé des lésions limitées à la muqueuse gastrique, l'adjonction de facteur de Castle n'augmente pas l'absorption de la vitamine B 12 lorsque le trouble se situe au niveau de la muqueuse intestinale. Cette affirmation de MASLOW est contredite par GASS-TER, qui a réussi à améliorer l'absorption intestinale de la vitamine B 12 chez des Biermériens en administrant il est vrai non pas des

préparations de facteur intrinsèque, mais du suc gastrique humain normal. Dans le cas d'anémie de Biermer, la vitamine B 12 radio-active administrée seule n'est pas fixée par le foie, mais la même dose d'isotope donnée en même temps qu'une préparation de facteur intrinsèque active entraîne une fixation positive de l'isotope radio-actif au niveau du foie.

Les expériences cliniques de GLASS lui permettent d'affirmer que dans l'anémie de Biermer, il y a défaut d'absorption intestinale de la vitamine B 12, par suite d'une absence de facteur intrinsèque d'origine gastrique, ce qui a pour conséquence un épuisement des réserves hépatiques, rénales, osseuses, musculaires, en vitamine B 12, comme le prouve l'absence de radio-activité à tous ces niveaux, après administration de B 12 marquée.

BONARD et INDEMINI de Genève, ont appliqué le test de Schilling à un groupe de malades atteints d'anémie hyperchrome, récente ou ancienne ; la mesure de la radio-activité des urines émises et son expression en pourcentage de la dose d'isotope reçue ont permis d'affirmer dans certains des cas l'absence de sécrétion du facteur intrinsèque d'origine endogène et donc de confirmer le diagnostic cliniquement porté de maladie de Biermer. Dans d'autres cas, le facteur intrinsèque était normal, et le processus causal du syndrome anémique siégeait ailleurs, troubles nutritionnels, stéatorrhée. BONARD conclut que "ces résultats sont assez fidèles pour qu'on leur accorde crédit dans tous les cas où la clinique reste hésitante".

PITNEY et STOKES ont cherché à préciser la valeur diagnostique de la vitamine B 12

radio-active en utilisant le test de Schilling modifié, comportant la prise par voie buccale d'une dose standard de 0,6 microgrammes de vitamine B 12 marquée par 60 Co. La radio-activité urinaire moyenne des premières 48 heures a été chez 22 témoins de 23,9 p. cent de la dose initiale. Dans cinq cas d'anémie mégaloblastique par carence en acide folique, une excrétion analogue de 22,4 p. cent, a été retrouvée. Chez 15 Biermériens en rechute, on a pu constater des troubles de l'absorption de vitamine, avec une radio-activité urinaire moyenne de 2,4 p. cent proportion qui s'est élevée à 19,6 p. cent lorsqu'à l'isotope marqué ingéré per os on a ajouté une préparation de facteur intrinsèque. 25 malades en traitement d'entretien, qui avaient eu préalablement un diagnostic d'anémie de Biermer, ont été soumis au test qui, dans 10 cas, a rejeté le diagnostic de Biermer, l'absorption de la vitamine B 12 radio-active ayant été chez eux normale.

ABELS et Collaborateurs ont appliqué à 20 Biermériens le test de Schilling modifié et ont comparé les résultats à ceux obtenus chez 30 témoins. Chez ceux-ci, l'excrétion urinaire de la radio-activité a été en moyenne de 29,2 p. cent de la dose reçue, tandis que chez les 20 Biermériens l'excrétion n'a été en moyenne que de 1,8 p. cent de la radio-activité ingérée avec l'isotope marqué. Chez 18 de ces Biermériens, on a refait un test avec cette fois, outre la dose de vitamine B 12 radio-active ; 25 ml de suc gastrique humain normal, neutralisé : cette fois, l'excrétion urinaire radio-active s'est élevée chez ces malades atteints d'anémie de Biermer, à 21,2 p. cent en moyenne.

2 - Autres anémies : En dehors de la maladie de Biermer, il est fréquent d'observer avec la vitamine B 12 radio-active une réponse analogue à celle obtenue dans l'anémie de Biermer ; à savoir une excrétion urinaire représentant une très faible proportion de la radio-activité de la dose d'isotope ingérée. Mais la différence essentielle est alors que cette réponse anormale redevient celle des témoins, à peu de chose près, si lors d'une seconde épreuve on ajoute à l'isotope le facteur intrinsèque de Castle. Or s'il s'agit d'anémie non Biermérienne, l'adjonction de facteur de Castle ne modifie pas l'anomalie du test (ce qui est facile à comprendre, puisque l'anémie a d'autres causes qu'une carence en facteur intrinsèque).

C'est ce qui a lieu en particulier dans la sprue, qui s'accompagne souvent de troubles de l'absorption de vitamine B 12 : ABELS a procédé à l'épreuve de B 12 marquée chez 5 malades atteints de sprue : l'absorption a chaque fois été défectueuse, et dans quatre cas elle n'a pas été améliorée par l'administration simultanée de facteur intrinsèque. Cet auteur conclut à la valeur de l'épreuve dans les anémies de Biermer atypiques, et dans le diagnostic différentiel des anémies magaloblastiques. Avec sa technique de fixation radio-active hépatique, GLASS montre que l'administration de vitamine B 12 marquée par ^{60}Co a pu rendre service :

- dans le diagnostic différentiel de diverses anémies macrocytaires ;
- dans la détection, ou le rejet, du diagnostic d'anémie de Biermer, aussi bien en rémission, qu'en rechute ;

- dans le diagnostic de la sprue, particulièrement au stade asymptomatique de la maladie;
- dans le diagnostic différentiel enfin, de l'anacidité simple réfractaire à l'histamine, de celle due à l'atrophie gastrique de l'anémie de Biermer au stade pré-anémique ou dans la forme non-anémique.

La fixation de l'isotope radio-actif dans le foie est normale dans les anémies par hémorragie, dans les anémies hémolytiques, dans les anémies nutritionnelles macrocytaires par carence diététique d'acide folique ou de vitamine B 12. Dans la sprue, et dans certains cas d'entérite régionale ou de shunt intestinal, la fixation hépatique est nulle, ou très faible, et ne peut être améliorée par l'addition de facteur intrinsèque à l'isotope radio-actif. Avec la technique accélérée de GLASS et BOYD, la détermination de la fixation de B 12 radio-active par le foie permet de porter le diagnostic d'anémie de Biermer ou de sprue en quatre jours, quel que soit le traitement préalable, ou le stade évolutif de la maladie. Cette technique modifiée surclasse celle de SCHILLING en ce qui concerne sa rapidité et aussi sa sécurité, car des erreurs sont toujours possibles si la malade omet de recueillir toutes ses mictions. Chaque détermination est faite en trente minutes, avec les méthodes utilisées pour la fixation d'I 131 par la thyroïde.

3 - Achlorhydrie : MAC LEAN applique la vitamine B 12 radio-active au diagnostic différentiel entre achylie gastrique et achlorhydrie. Il a obtenu les résultats suivants avec le test de SHILLING :

gastrectomie totale ou subtotale : l'épreuve

rappelle celle de l'anémie de Biermer, avec une excrétion urinaire de moins de 1 p. cent de la radio-activité reçue. L'administration de facteur intrinsèque en même temps que de B 12 marquée ramène l'excrétion à la normale. Les résultats ne dépendent pas du type d'anastomose après gastrectomie totale.

achlorhydrie (épreuve à l'histamine) : sur 53 sujets, deux présentaient au test une absence de facteur intrinsèque, sans signes cliniques et biologiques d'anémie de Biermer; ce type de malades est plus exposé au cancer gastrique que ceux ayant une achlorhydrie simple.

En cas de stéatorrhée enfin, le test par vitamine B 12 marquée ne semble pas apporter de résultats concrets. BADENOCH l'a pratiqué chez neuf malades atteints de stéatorrhée, avec des résultats très variables, réponses parfaitement normales, alors même qu'une anémie mégaloblastique grave avait été constatée, ou au contraire troubles de l'absorption de vitamine B 12 tout à fait comparables à ceux de l'anémie de Biermer, mais non influencés par le facteur intrinsèque. La muqueuse gastrique est variable dans la stéatorrhée, comme le sont d'ailleurs aussi la sécrétion de pepsine et l'excrétion d'uropepsine : muqueuse parfois normale, gastrite fréquente, très rarement atrophie.

BADENOCH a vu un test révéler une mauvaise absorption de B 12 dans un cas d'anémie mégaloblastique par cul-de-sac du grêle. Dans le suc gastrique on devait trouver de l'acide chlorhydrique libre. L'absorption de B 12 n'a été améliorée ni par le facteur intrinsèque, ni par un traitement d'auréomycine, qui cependant avait amélioré la numération sanguine.

L'absorption de B 12 radio-active s'est

montrée normale dans quatre cas d'anémie mégalo-blastique gravidique ; la muqueuse gastrique examinée chez trois malades s'est montrée normale dans deux cas, atteinte de gastrite superficielle dans le troisième cas.

Dans des anémies ferriprives, chez neuf malades ayant présenté à la biopsie une atrophie de la muqueuse gastrique, l'absorption de B 12 a paru normale dans certains cas, un peu troublée dans d'autres cas. Chez deux malades avec test très altéré, l'adjonction de facteur intrinsèque a ramené l'absorption de B 12 à la normale : or chez l'un de ces malades, l'aspect de la biopsie de muqueuse gastrique en imposait pour une maladie de Biermer. L'épreuve a donc pu rectifier un diagnostic, encore qu'une surveillance prolongée va seule montrer si une anémie de Biermer va finalement se constituer.

L'emploi de la vitamine B 12 radio-active et l'étude de son coefficient d'absorption et d'excrétion trouvent donc leur place dans les diagnostics hématologiques. C'est surtout dans la maladie de Biermer que la fixation apporte des éléments décisifs. Test de Schilling avec étude de la radio-activité des urines émises, test modifié avec détermination de la radio-activité fécale, étude superficielle de la fixation de B 12 radio-active par le foie, autant de méthodes qui peuvent affirmer, confirmer ou exclure des diagnostics hématologiques qui seuls permettront une décision thérapeutique efficace. Naturellement ces examens n'apportent pas toujours des réponses absolues et tranchées, car elles risquent d'être influencées par maints facteurs asso-

ciés. Mais replacées dans le contexte clinique, biologique, hématologique, elles peuvent avancer le diagnostic ou l'orienter utilement dans les cas où la symptomatologie ou le laboratoire demeurent incertains.

-:-

- V -

CONCLUSIONS

-:-

I - Le rôle du facteur intrinsèque dans la pathogénie de l'anémie de Biermer est établi depuis une trentaine d'années ; mais ce n'est que récemment que l'on a identifié le facteur dit extrinsèque à la vitamine B 12. Et puisque le métabolisme de cette dernière est sous la dépendance du facteur de Castle, son étude permettra de préciser si l'anémie devant laquelle on se trouve dépend ou non d'une carence en facteur intrinsèque : en d'autres termes, si elle est, ou non biermérienne.

II - Le marquage de la vitamine B 12 par le cobalt radio-actif a grandement facilité cette étude : la mesure du pourcentage de radio-activité éliminée dans les urines, les feces, ou par le revêtement cutané de projection d'organes (foie en particulier) par rapport à la dose radio-active reçue, permet l'appréciation exacte de la fixation de la vitamine B 12.

III - On utilise surtout pour le marquage de B 12 le 60 Co, mais sa période est de cinq années, ce qui comporte des risques. Avec 56-57-58 Co, d'une demi-vie de 72 jours, la sécurité est accrue, mais la technique est plus difficile pour la préparation de l'isotope radio-actif. Sur le plan biologique, les résultats sont sensiblement les mêmes.

IV - Les renseignements apportés par l'étude du métabolisme de la vitamine B 12 radio-active interviennent utilement dans le diagnostic positif et le diagnostic différentiel des diverses anémies : anémies Biermériennes, nutritionnelles, ferriprives ; anémies des gastrectomisés, sprue, stéatorrhée. Le test de Schilling et les méthodes qui en dérivent permettent de titrer l'activité d'une préparation contenant le facteur intrinsèque. Les résultats obtenus sont dans l'ensemble suffisamment précis et fidèles pour que l'emploi de la vitamine B 12 marquée occupe une place importante dans les techniques d'exploration hématologique.

-:-

Vu :
Le Président :
Signé : G. MARCHAL

Vu :
Le Doyen :
Signé : L. BINET

Vu et Permis d'Imprimer
Le Recteur de l'Académie de Paris :
Signé : J. ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

-:-

AUZEPY P., BOURDON G. et FAUVERT R.

Etude de la libération hépatique de la
vitamine B 12 marquée par le Cobalt 60
au cours des nécroses expérimentales
par le tétrachlorure de carbone
Revue Française. Et. Clin. biol.,
décembre 1959, 4, n° 10, p.
1036-1038

ABELS J., WOLDRING M.G., NIEWEG H.O.

L'emploi du test de Schilling dans le
diagnostic de l'anémie depernicieuse et
affections voisines.
Néderl. Tidschr. Genesk. CII pages 869
873, 3 mai 1958

ARON E., CARG NELUTTI Y.

La persistance de l'action antiperni-
cieuse de la vitamine B 12
Presse Médicale LXVII pages 1345-1348
4 juillet 1959

BADENOCH J., CALLENDER S.T., EVANS J.R.,
SPRAY G.H., RICHARDS W.C.D., TURNBULL A.,
WAKISAKA G., WITTS L.J.

Gastric biopsy and radioactive vitamine
B 12 in the study of the stomach in
anemia
Revue d'hématologie X pages 194-197
1955

BAKER S.J., MOLLIN D.L.

The relationship between intrinsic fac-
tor and vitamin B 12 absorption.

Revue d'hématologie X pages 180-186
1955

BARBEE K.W., JOHNSON B.C.

Metabolism of radioactive vitamin
B 12 by the Rat
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. LXXVI,
page 720, 1951

BERLYNE et Coll.

Radioactive vitamin B 12 in neurological
diagnosis
Lancet I, page 294 1957

BESANÇON F.

L'absorption intestinale de la vita-
mine B 12
Path. Biol. 1961, vol. 9, n° 17-18,
1775 - 1779

BESANÇON F.

Communication à la Société Médicale
des Hôpitaux de Paris
Décembre 1961, inédite

BONARD E.C., INDEMINI M.

Anémies hyperchromes et vitamine B 12
radioactive. Test de Schilling
Schweiz. Med. Woch. Pages 251-255
7 mars 1959

BRADLEY J.E., SMITH E.L., BAKER S.J.

MOLLIN D.L.

The use of the radioactive isotope
of Cobalt Co 58 for the preparation
of labelled vitamin B 12
Lancet II, pages 476-477, 4 septemb.
1954

CALLENDER S., TURNBULL A., WAKISAKA G.

Estimation of intrinsic factor of
Castle by use of radioactive vita-
min B 12

Brit. Med. J. II page 10 1954

CHAIET L., ROSENBLUM C., WOODBURY D.T.
Biosynthesis of radioactive vitamin
B 12 containing Co
Science CXI page 601 1950

CHOW B.F., ROSENBLUM C., SILBER R.H., WOOD-
BURY D.T., YAMAMOTO R., LANG C.A.
Oral administration of Vitamin B 12
containing Cobalt Co to Rats
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. LXXVI
page 393 1951

COX E.V., ROSS G.I.M., UNGLEY C.C.,
The role of the Castle's intrinsic
factor in the absorption of vitamin
B 12
Revue d'hématologie X pages 198 -
201 1955

CROIZAT P., REVOL L., CREYSSSEL R. et autres
Le traitement de la maladie de Bier-
mer par l'association facteur intrin-
sèque - vitamine B 12. Essais clini-
ques d'une préparation
Presse Méd. LXVI pages 1204 - 1206
1958

GLASS G.B.J., BOYD L.J., STEPHANSON L.
Uptake of radioactive vitamin B 12
by the liver in humans : test for
measurement of intestinal absorption
of vitamin B 12 and intrinsic factor
activity
Arch. Biochem. Biophys. LI page 251
1954

GLASS G.B.J.
Scintillation measurements of the up-

take of the radioactive vitamin B 12
by the liver in the normal human and
patient with pernicious and other ma-
crocyte anemias
Bull. Ny Acad. Med. XXX page 717
1954

GLASS G.B.J., GELLIN G.A., STEPHANSON L.
Scintillation measurements of the up-
take of radioactive vitamin B 12 in
humans
Clin. Res. Proc. II page 31 1954

GLASS G.B.J.
Biochemistry and physiology of Castle's
intrinsic factor and its relationship
to the metabolism of vitamin B 12
Revue d'hématologie X pages 137-179
1955

GLASS G.B.J., BOYD L.J., LUHBY A.L., STE-
PHANSON L.
Essay of intrinsic factor preparations:
comparaison of the hepatic uptake of
radioactive Co 60 - vitamin B 12 with
the hematopoietic response in perni-
cious anemia
J. Lab. et Clin. Med. 1955

GLASS G.B.J., BOYD L.J., GELLIN G.A.
Surface scintillation measurements
in humans of the uptake of parenteral-
ly administred radioactive vitamin
B 12
Blood X pages 95-114 Février 1955

GLASS G.B.J., BOYD L.J.
Differentiation of macrocytic anemias
and diagnosis of pernicious anemia
and sprue in remission by accelerated

measurement on hepatic uptake of radioactive Co 60 B I2

Ann. Int. Med. XLVII pages 274-292

Août 1957

HALSTED J.A., GASSTER M., DRENICK E.J.

Absorption of radioactive vitamin B I2 after total gastrectomy : relation to macrocytic anemia and to site of origine of Castle's intrinsic factor.
New - England J. Med. CCLI pages 161-168 29 juillet 1954

HEINLE R.W., WELCH A.D., SCHARF V., MEACHAM G.C., PRUSOFF W.H.

Studies of excretion (and absorption) of Co 60 - labeled vitamin B I2 in pernicious anemia

Tr. A. Am. Physicians LXII pages 214 - 222 1952

HOLMES, BELL

Cobalt 60 vitamin B I2 absorption test
Canadian Med. Ass. J. LXXXIV page 79 1961

JOHNSON P.C., BIRD R.M., SMITH C.W.

Liver counting of cobalt 60 labeled vitamin B I2 in the diagnostic of pernicious anemia

South Med. J. LI pages 417 - 420 1958

KING E.R., MITCHELL T.G., SPENCER R.P.

The use of radioisotops in the diagnostic hematologic procedus

I. Application of the B I2 Co 60 test in the diagnostic of macrocytic anemias and malabsorption states

Am. J. Clin. Path. XXVIII pages 115 - 122 1957

LANG C.A., GLEYSTEN D.M., CHOW B.F.

The disappearance of radioactivity
from the tissues of the Rats of different
ages after subcutaneous administration
of radioactive vitamin B
I2

J. Nutrition L page 213 1953

MAC INTYRE P.A., SACHS M.V., KREVANS J.R.,
CONLEY C.L.

Pathogenesis and treatment of macro-
cytic anemia : information obtained
with radioactive vitamin B I2

Arch. Int. Med. XCVIII pages 541-
549 Novembre 1956

MAC LEAN L.D.

The differentiation of achylia gastri-
ca and achlorhydria by means of radio-
active vitamin B I2

Gastroenterology XXIX pages 653 -
665 Octobre 1955

MACSMYTHE C.

The use of radioactively labelled vita-
min B I2 in the diagnosis of pern-
icious anemia

J. South Carolina M.A. LIII pages
329 - 332 Septembre 1957

MASLOW W.C., DONNELLY W.J., KOPPEL D.M.,
SCHWARTZ S.O.

Observations on the use of Co 60 label-
led vitamin B I2 in the urinary excre-
tion test

Acta Haematol. 18 / 2 pages 137-147
1957

MEYER L.M., SAWITSKY A., RITZ N.D., KRIM M.

Oral treatment of pernicious anemia
with subminimal doses of folic acid
and vitamin B I2

Am. J. Clin. Path. XX page 454 1950

MEYER L.M., BECERRA-CARCIA A., GOLDMAN A.,
STERN P.A.

Oral administration of Co 60 vitamin
B I2 to normal persons, patients with
pernicious anemia and subjects with
various medical disorders

J. Appl. Physiol. VI page 263 1953

MEYER L.M.

Oral administration of Co 60 vitamin
B I2 in pernicious anemia

Proc. Soc. Exp. Biol. et Med. LXXXII
page 490 1953

PITNEY W.R., STOKES J.B.

Diagnostic value of radioactive vita-
min B I2

Australian Ann. Med. VII pages 126 -
131 Mai 1958

REISNER Jr E.H., ROSENBLUM C., MORGAN M.C.

Urinary excretion of orally adminis-
tered Co 60 - labelled vitamin B I2
in normal subjects and patients with
pernicious anemia and sprue

Clin. Res. Proc. II page 56 1954

ROSENBLUM C., CHOW B.F., CONDON G., YAMAMO-
TO R.

Oral versus parenteral administration
of Co 60 labelled vitamin B I2 to Rats
J. Biol. Chem. CXCVIII page 915 1952

ROSENBLUM C., WOODBURY D.T., REISNER Jr E.H.

The use of Cobalt 60 labelled vitamin
B I2 for the evaluation of intrinsic
factor activity

Proceedings II and Radioisotope Conf.
Oxford 1954 C.R. pages 287-297

SCHILLING R.F.

A new test for intrinsic factor activity

J. Lab. Clin. Medicine XLII pages 946-947 Décembre 1953

SCHILLING R.F., DEISS W.P.

Intrinsic factor studies : I. Paper electrophoresis of a mixture of gastric juice and radioactive vitamin B 12

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. LXXXIII page 506 1953

SCHILLING R.F.

Intrinsic factor studies : II. The effects of gastric juice on urinary excretion of radioactivity after oral administration of radioactive vitamin B 12

SCHILLING R.F.

Recent studies of intrinsic factor and the utilization of radioactive vitamin B 12

Feder. Proc. XIII pages 769-775 1954

SCHILLING R.F., CLATANOFF D.V., KORST D.R.

Intrinsic factor studies : III. New observations obtained with urinary radioactive test, in : achlorhydric or Biermer patients, or completely gastrectomized

J. Lab. Clin. Med. XLV pages 926 - 934 1955

SUAREZ Jr R.M., BUSO R., SABATER J., SUAREZ R.M.

Oral administration of Co 60 vitamin

B I2 in tropical sprue and hepatic
cirrhosis and diarrhea
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. LXXXIII
page 68I 1953

SWENDSEID M.E., HALSTED J.A., LIBBY R.L.
Excretion of Co 60 labelled vitamin
B I2 after total gastrectomy
Proc . Soc . Exp. Biol. Med. LXXXIII
page 226 1953

Mlle WEIS J.
Sur l'absorption de la vitamine B I2
radioactive par l'intestin du Rat
Acad. Sciences 14 Mai 1956

WOLF R.
L'absorption de la vitamine B I2
radioactive par l'anse intestinale
du Rat normal in situ
C.R. Acad. Sciences Séance du 28
Mai 1958

TABLE DES MATIERES

--:-

	pages
I. INTRODUCTION	I7
II. ETUDE PHYSIQUE	23
III. ETUDE TECHNIQUE ET BIOLOGIQUE	27
IV. ETUDE CLINIQUE	47
V. CONCLUSIONS	57
VI. BIBLIOGRAPHIE	59
TABLE DES MATIERES	68

